

US-PAT-NO: 7022285

DOCUMENT-IDENTIFIER: US 7022285 B2

TITLE: Integral-multilayer analytical element for analysis of ammonia or ammonia-producing substance

DATE-ISSUED: April 4, 2006

PRIOR-PUBLICATION:

DOC-ID	DATE
US 20020068364 A1	June 6, 2002

INVENTOR-INFORMATION:

NAME	CITY	STATE	ZIP CODE	COUNTRY
Arai; Takaki	Saitama			JP
Arai; Fuminori	Saitama			JP
Ishizaki; Keiichi	Saitama			JP

US-CL-CURRENT: 422/56; 422/55, 422/57, 422/83, 422/86, 422/87

CLAIMS:

The invention claimed is:

1. In an integral multilayer analytical element for the determination of ammonia or an ammonia-producing substance comprising a transparent support, an indicator layer containing an indicator which produces a detectable change by gaseous ammonia, a liquid blocking layer permitting gaseous ammonia to pass therethrough, a reagent layer containing an alkaline buffering agent and optionally a reagent capable of reacting with said ammonia-producing substance to produce ammonia, and a spreading layer, adhesively laminated in this order, the improvement which comprises that said liquid blocking layer is composed of at least two types of porous membrane layers which are impermeable to aqueous liquids, wherein a pore diameter of an uppermost porous membrane of said at least two types of porous membrane layers, which contacts said reagent layer, is smaller than that of a just underlying porous membrane.
2. The integral multilayer analytical element as claimed in claim 1, wherein said at least two porous membrane layers comprise a porous polypropylene membrane and a porous polyethylene membrane.
3. The integral multilayer analytical element as claimed in claim 1, wherein said liquid blocking layer has a total thickness of 10 to 50 .mu.m.
4. The integral multilayer analytical element as claimed in claim 1, wherein said pore diameter in the uppermost membrane is 0.01 to 1 .mu.m and that of the just underlying porous membrane is 0.2 to 20 .mu.m.
5. The integral multilayer analytical element as claimed in claim 1, wherein a ratio of the pore diameter of the uppermost porous membrane to the pore diameter of the just underlying porous membrane is in a range of 0.01 to 0.5.

⑨ 日本国特許庁 (JP) ⑩ 特許出願公開
 ⑪ 公開特許公報 (A) 昭56-145273

⑫ Int. Cl. ³ C 07 D 213/26 215/12 // C 09 B 23/00 G 01 N 31/22 33/52	識別記号 1 2 2	府内整理番号 7138-4C 7306-4C 6859-4H 6514-2G 6422-2G	⑬ 公開 昭和56年(1981)11月11日 発明の数 1 審査請求 未請求
--	---------------	---	--

(全 6 頁)

⑭ ビス(ジニトロフェニル)メチルピリジニウムもしくはキノリニウム化合物

⑫ 特 願 昭55-46198

⑬ 出 願 昭55(1980)4月10日

⑭ 発明者 鶴飼利直

南足柄市中沼210番地富士写真

フィルム株式会社内

⑭ 発明者 北島昌夫

朝霞市大字溝沼105番地富士写

真フィルム株式会社内

⑬ 出願人 富士写真フィルム株式会社

南足柄市中沼210番地

⑭ 代理人 弁理士 佐々木清隆 外2名

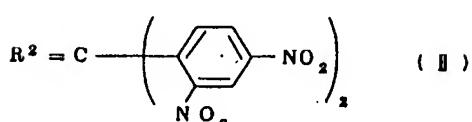
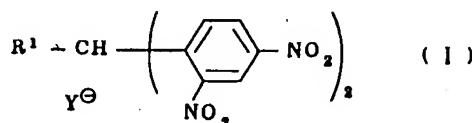
明細書

1. 発明の名称

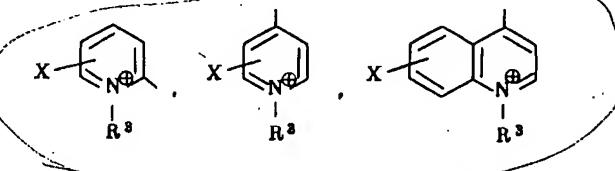
ビス(ジニトロフェニル)メチルピリジニウムもしくはキノリニウム化合物

2. 特許請求の範囲

一般式(I)で表わされるビス(2,4-ジニトロフェニル)メチル置換ピリジニウムもしくはキノリニウム化合物、または一般式(II)で表わされるビス(2,4-ジニトロフェニル)メチレン置換/2,4-ジヒドロピリジンもしくは/2,4-ジヒドロキノリン化合物。

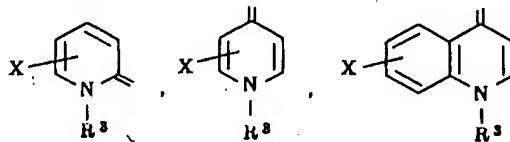


(但し、 R^1 は



(但し、 R^1 は炭素数1～22のアルキル基、炭素数7～28のアラルキル基、アリル基または3-フェニルアリル基を表わし、Xは炭素数1～22のアルキル基、炭素数1～22のアルコキシ基、炭素数6～14のアリール基、炭素数6～14のアリールオキシ基、炭素数1～22のアルキルスルホニル基、炭素数6～14のアリールスルホニル基、ハログン原子、ヒドロキシ基または水素原子を表わす。)を、

R^2 は



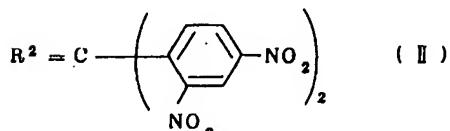
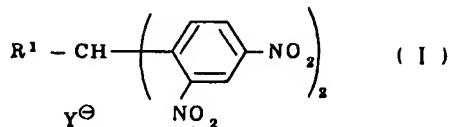
(但し、 R^1 と X は前記と同じ意味を表わす。) を、 Y^\ominus はアニオン官能基をそれぞれ表わす。

3. 発明の詳細な説明

本発明は新規なアンモニア検出用試薬として有用なビス(2,4-ジニトロフェニル)メチル置換ピリジニウムもしくはキノリニウム化合物、またはビス(2,4-ジニトロフェニル)メチレン置換1,4-ジヒドロピリジンもしくは1,4-ジヒドロキノリン化合物に関する。

従来、アンモニア検出用指示薬としては種々のものが知られている。例えば、特開昭52-3488号明細書や米国特許第4,066,403号明細書に開示されたプロトン化した染料あるいはロイコ染料、例えばロイコシアニン染料、ニトロ置換ロイコ染料やロイコフタレン染料、より具体的には、1-メチル-2(2,4-ジニトロベンジル)キノリニウムペルクロラート、1-エチル-4(2,4-ジニトロ-1-ナフチル)メチルキノリニウムクロリド、4(2,4-ジニトロ-4-クロロベンジル)-1-ブロピルキノリニ

- 3 -



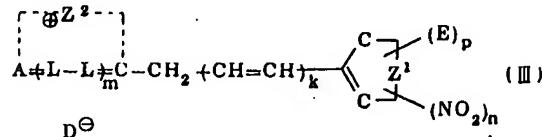
(但し、式中 R^1 、 R^2 および Y^\ominus は下記に定義する通りである。)

本発明のニトロ置換体と類似の構造をもつたニトロ置換ロイコ染料は、上述の特許明細書に教示されている。すなわち、同明細書ではこれ等ニトロ置換ロイコ染料を下記一般式(III)でもつて表示している。

ウムエチルスルホナート、1-エチル-4(2,4-ジニトロベンジル)キノリニウムエチルクロリド、1-エチル-4(2,4-ジニトロベンジル)キノリニウムエチルスルホナート、1-エチル-4(2,4-ジニトロベンジル)キノリニウムクロリド、6-(2,4-ジニトロフェニル)-6H-ピリド[2,1- α]イソインドリウムペルクロラート、フェノールスルホナフタレンのナトリウム塩等がよく知られている。これ等の染料は、アンモニア等の塩基の存在下脱プロトン化して染料の形態に変化するものである。

本発明の化合物は、これ等のうちでニトロ置換ロイコ染料ならびにそのプロトン脱離体染料に係わるものである。すなわち、本発明の化合物は下記一般式(I)で表わされるビス(2,4-ジニトロフェニル)メチル置換ピリジニウムもしくはキノリニウム化合物、または一般式(II)で表わされるビス(2,4-ジニトロフェニル)メチレン置換1,4-ジヒドロピリジンもしくは1,4-ジヒドロキノリン化合物である。

- 4 -



(但し、 k および m は 0 又は 1 であり、 C は 1 又は 2 であり、 L は置換されたメチル基も含めたメチル基であり、 A は電子供与基であり、 E は電子吸引基であり、 p は 0 又は 1 であり、 Z^1 はオルト-又はパラ-置換されることのできるアリール環を完成するのに必要な原子群を表わし、 Z^2 は複素環核を完成するのに必要な非金属原子群を表わし、 D^\ominus は酸の陰イオンを表わす。)

これらの染料は、アンモニア検出感度が高く、またドライないしは疎水性媒体中でも感度を保持しており、体液試料の化学的分析、特に血中尿素窒素(BUN)の自動化学分析に有効な指示薬として使用されている。しかしながら、これらの染料は、光や熱に対して不安定であるため自動分析におけるような実質的な瞬間的な読み取り操作の

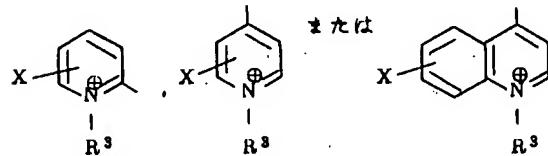
- 5 -

場合を除いては不適当である。

かかる欠点を是正すべく研究を重ねた結果、本発明者等は上記一般式 (I) で表わされる化合物が意外にも上述の公知のニトロ置換ロイコ染料にまさるアンモニア検出感度およびドライないしは疎水性媒体中の感度保持の性能を有するとともに光や熱に対する安定性がよいことを見い出して本発明を完成した。

上記一般式 (I) 中、

R¹ は、



(式中、R³ は炭素数 1 ~ 2 のアルキル基、炭素数 2 ~ 2 的アラルキル基 (例えば、ベンジル基、フェニル基等)、アリル基または 2-フェニルアリル基を表わし、X は炭素数 1 ~ 2 的アルキル基、炭素数 1 ~ 2 的アルコキシ基、炭素

- 7 -

(但し、R³ と X は前記と同じ意味を表わす。) を表わす。

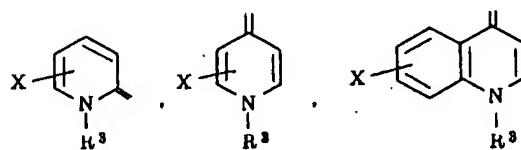
一般式 (I) で示されるこれ等化合物は、通常の公知の手法に従つて合成することができるが、ここにその一例を述べる。

メチル置換ピリジンまたはキノリンの四級塩およびそれらの誘導体と 2 ないし 5 当量の 2, 4-ジニトロクロロベンゼンをアセトニトリル中で、2 ないし 5 当量のトリエチルアミン存在下で反応させる。生成した染料を常法により単離後、適当な溶媒 (例えばアセトニトリル、アセトン、メタノール、エタノールなど) 中で適当な酸 (塩酸、臭素酸、過塩素酸等の無機酸または、ベンゼンスルホン酸、p-トルエンスルホン酸、メタンスルホン酸、エタンスルホン酸等の有機酸) と反応させると一般式 (I) で示されるニトロ置換ロイコ染料が得られる。

この一般式 (I) で示されるニトロ置換ロイコ染料がアンモニアと接触すると α -位プロトンを脱離してニトロ置換染料となり、またアンモニア

数 6 ~ 14 のアリール基、炭素数 6 ~ 14 のアリールオキシ基、炭素数 1 ~ 2 的アルキルスルホニル基、炭素数 6 ~ 14 のアリールスルホニル基、ハロゲン原子 (例えば、塩素、臭素、ヨウ素または弗素原子)、ヒドロキシ基または水素原子を表わし、Y[⊖] はアニオン官能基 (例えば、フルオリド、クロリド、ブロミド、ヨージド等のハロゲン陰イオン、p-トルエンスルホナート、置換基を有してもよいベンゼンスルホナート、メタンスルホナート、エタンスルホナート等の有機アニオン、ペルクロラート、テトラフルオロボラート、ヘキサフルオロホスファート等の無機アニオン) を表わす。) を表わす。また、一般式 (II) 中

R² は



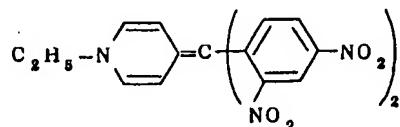
- 8 -

が、酸の塩 (アンモニウム塩) となる。これが発色の機構と考えられる。

次に、本発明を下記の実施例をもつて詳細に説明するが、本発明はこれ等実施例に限定されるものではない。

実施例 1

4-[(ビス(2, 4-ジニトロフェニル)メチレン)-1-エチル-1, 4-ジヒドロピリジンの合成



1-エチル-4-メチルピリジニウムプロミド 1.0 g、2, 4-ジニトロクロロベンゼン 4.5 g にアセトニトリル 100 ml を加え、加熱均一化した。ここへトリエチルアミン 30 ml とアセトニトリル 20 ml の混合物をゆっくり滴下すると、反応液は直ちに青色に変化し、結晶が析出

- 9 -

しはじめた。該混合物の滴下が完了した後、加熱還流下3時間反応させたのち、メタノール100mlを加え冷却、一晩放置した。かくして生成した黒緑色の結晶を戻取し、熱メタノール50mlで2回洗つたのち乾燥させると目的物11.4g(収率: 88%)を得た。この化合物の物性値は下記に示すようなものであつた。

融点: 250~254°C

$\lambda_{\text{max}}^{\text{CH}_3\text{CN}}$ 585 nm $\epsilon = 2.64 \times 10^4$

元素分析 $\text{C}_{20}\text{H}_{15}\text{N}_5\text{O}_8$

実測値: H3.24%, C53.08%, N15.63%

理論値: H3.34%, C52.99%, N15.45%

NMR分析 ($\text{d}^6\text{-DMSO}$)

$\delta 1.25$ (t)

$\delta 3.83$ (q)

$\delta 6.45$ (d)

$\delta 7.45-7.70$ (q)

$\delta 8.10-8.30$ (q)

$\delta 8.57$ (d)

Mass分析 $M^+ = 453$

-11-

実測値: H3.34%, C52.67%, N15.44%

理論値: H3.34%, C52.99%, N15.45%

NMR分析 ($\text{d}^6\text{-DMSO}$)

$\delta 1.45$ (t) 3H

$\delta 4.05$ (q) 2H

$\delta 6.95$ (d) 1H

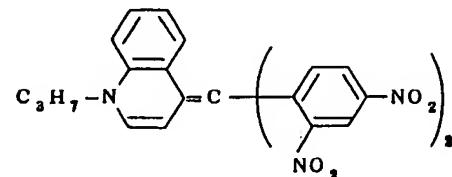
$\delta 7.2-7.6$ (m) 3H

$\delta 7.7-8.15$ (m) 3H

$\delta 8.6-8.7$ (m) 3H

実施例3

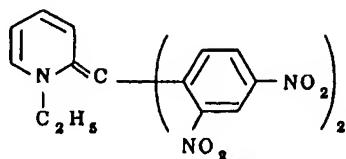
4-(ビス(2,4-ジニトロフェニル)メチレン)-1-プロピル-1,4-ジヒドロキナリンの合成



-13-

実施例2

2-[ビス(2,4-ジニトロフェニル)メチレン]-1-エチル-1,4-ジヒドロビリジンの合成



1-エチル-2-メチルビリジニウムヨードドリドと2,4-ジニトロクロルベンゼン31.7gから、実施例1と同様な方法で、金属光沢を有する黒褐緑色の目的物11.4g(収率: 48%)を得た。この化合物の物性値は下記に示すようなものであつた。

融点: 212~215°C

$\lambda_{\text{max}}^{\text{CH}_3\text{CN}}$ 595 nm $\epsilon = 2.73 \times 10^4$

Mass分析: $M^+ = 453$

元素分析 $\text{C}_{20}\text{H}_{15}\text{N}_5\text{O}_8$

-12-

4-メチル-1-プロピルキノリニウムヨードドリドと2,4-ジニトロクロルベンゼン38.8gにアセトニトリル150mlを加え、加熱均一化した。ここへトリエチルアミン24gとアセトニトリル25mlの混合物をゆっくり滴下すると、反応液は直ちに青色に変化した。該混合物の滴下が完了した後、3時間加熱還流させ溶媒を留去し、残渣にメタノール100mlを加え冷却放置すると結晶が生成した。メタノールをデカンテーションにより除去し残渣をアセトニトリルに溶かし、シリカゲルカラム(アセトニトリル展開溶媒)を通して精製すると黒紫青色の目的物5.5g(収率: 22%)を得た。この化合物の物性値は下記に示すようなものであつた。

融点: 175~177°C

$\lambda_{\text{max}}^{\text{CH}_3\text{CN}}$ 617 nm $\epsilon = 2.12 \times 10^4$

Mass分析: $M^+ = 517$

元素分析 $\text{C}_{25}\text{H}_{19}\text{N}_5\text{O}_8$

実測値: H3.80%, C57.94%, N12.93%

理論値: H3.70%, C58.02%, N13.33%

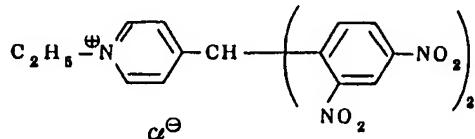
-14-

N M R 分析 (d⁶-DMSO)

δ 0 . 8 5 (t)
 δ 1 . 7 (m)
 δ 4 . 0 5 (t)
 δ 6 . 1 6 (d)
 δ 7 . 0 - 7 . 7 (m)
 δ 8 . 1 - 8 . 3 5 (m)
 δ 8 . 4 5 - 8 . 6 2 (q)

実施例4

4-[(ビス(2,4-ジニトロフェニル)メチル)-1-エチルピリジニウムクロリドの合成

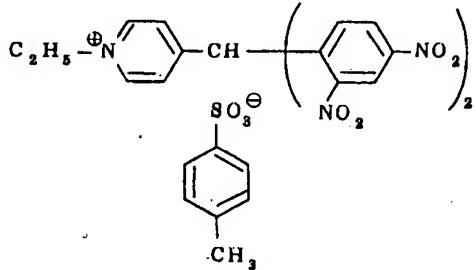


実施例4で得た4-[(ビス(2,4-ジニトロフェニル)メチレン)-1-エチル-1,4-ジヒドロピリジン2,0とアセトニトリル60mlの懸濁物中に、室温下、淡塩酸4mlを加えると反

- 15 -

実施例5

4-[(ビス(2,4-ジニトロフェニル)メチル)-1-エチルピリジニウムp-トルエンスルホナートの合成



実施例4で得た4-[(ビス(2,4-ジニトロフェニル)メチレン)-1-エチル-1,4-ジヒドロピリジン2,0とp-トルエンスルホン酸(1水塩)1.6gをアセトニトリル70ml中、70°Cで5時間反応させた。冷却後、生成した結晶を沪取し、酢酸エチルで洗うと無色の目的物2.6g(収率: 94%)を得た。この化合物の物性値は下記に示すようなものであつた。

- 16 -

応液は均一な淡黄色に変化した。減圧下溶媒を留去し、残渣に少量のアセトンを加え均一溶液としたのち、酢酸エチルを加えると無色の結晶が生成した。結晶を沪取し、酢酸エチルで洗うと、目的物(2水塩)2.1g(収率: 91%)を得た。この化合物の物性値は下記に示すようなものであつた。

融点: 195~212°C (分解)

元素分析 C₂₀H₁₆ClN₅O₈·2H₂O実測値: H₃, 7.4%, C₄₅, 8.6%, N/3, 3.3%理論値: H₃, 8.3%, C₄₅, 8.8%, N/3, 3.2%N M R 分析 (d⁶-DMSO)

δ 1 . 5 2 (t) 3 H
 δ 4 . 1 6 (q) 2 H
 δ 7 . 1 5 (s) 1 H
 δ 7 . 5 6 (d) 2 H
 δ 8 . 0 (d-br) 2 H
 δ 8 . 5 5 (d-d) 2 H
 δ 8 . 9 1 (d) 2 H
 δ 9 . 3 0 (d-br) 2 H

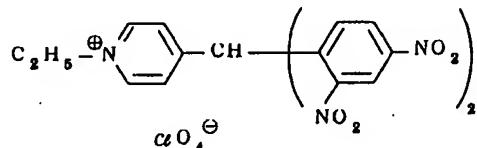
- 16 -

融点: 200~235°C (分解)

元素分析 C₂₁H₂₃N₅O₁₁S実測値: H₃, 7.2%, C₅₁, 8.2%, N/1, 1.9%理論値: H₃, 7.1%, C₅₁, 8.4%, N/1, 1.9%

実施例6

4-[(ビス(2,4-ジニトロフェニル)メチル)-1-エチルピリジニウムペルクロラートの合成



実施例4で得た4-[(ビス(2,4-ジニトロフェニル)メチレン)-1-エチル-1,4-ジヒドロピリジン2,0とアセトニトリル30mlの懸濁物中に氷冷下、60% HClO₄ 5mlを加えると均一溶液になつた。1時間後、減圧下溶媒を留去すると結晶が析出した。これに飽和NaClO₄水溶液20mlを加え十分に搅拌したのち、結晶を

沪取し、水と酢酸エチルで洗うと無色の目的物 2.3g (收率: 94%) を得た。この化合物の物性値は下記に示すようなものであつた。

融点: 218~220 °C (分解)

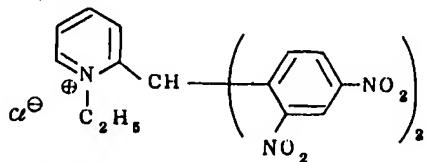
元素分析 C₂₀H₁₆ClN₅O_{1.2}

実測値: H₂.85%, C43.20%, N12.74%

理論値: H₂.91%, C43.38%, N12.64%

実施例7

2-[(ビス(2,4-ジニトロフェニル)メチル)-1-エチルピリジニウムクロリドの合成



実施例2で得た2-[(ビス(2,4-ジニトロフェニル)メチレン)-1-エチル-1,2-ジヒドロピリジン2.0gと濃塩酸5mlをアセトニトリル中で実施例4と同様の操作を行なつた。かくして、無色の結晶として目的物(2水塩)2.3

-19-

アセトニトリル中で実施例6と同様の操作を行なつた。かくして、無色の結晶として目的物2.4g (收率: 98%) を得た。この化合物の物性値は下記に示すようなものであつた。

融点: 260~276 °C (分解)

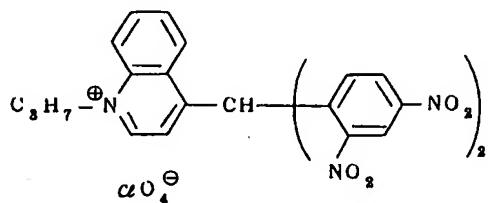
元素分析 C₂₀H₁₆ClN₅O_{1.2}

実測値: H₃.06%, C43.57%, N12.56%

理論値: H₂.91%, C43.38%, N12.64%

実施例8

4-[(ビス(2,4-ジニトロフェニル)メチル)-1-プロピルキノリニウムペルクロラートの合成



実施例3で得た4-[(ビス(2,4-ジニトロフェニル)メチレン)-1-プロピル-1,4-

9 (收率: 99%) を得た。この化合物の物性値は下記に示すようなものであつた。

融点: 110~160 °C (青色化)

172~173 °C (浴融)

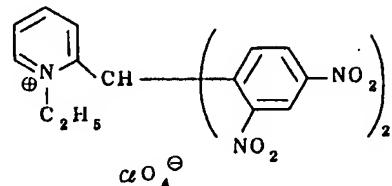
元素分析 C₂₀H₁₆N₅ClO₈·2H₂O

実測値: H₃.28%, C45.51%, N13.35%

理論値: H₃.83%, C45.68%, N13.32%

実施例9

2-[(ビス(2,4-ジニトロフェニル)メチル)-1-エチルピリジニウムペルクロラートの合成



実施例2で得た2-[(ビス(2,4-ジニトロフェニル)メチレン)-1-エチル-1,2-ジヒドロピリジン2.0gと60% HClO₄ 5mlを

-20-

ジヒドロキノリン2.0gとアセトニトリル50mlの懸濁液中に氷冷下、60% HClO₄ 4mlを加えると、反応液は均一な淡黄色に変化した。減圧下溶媒を留去し、残渣を少量のアセトンに溶かし均一溶液としたのち、酢酸エチルを加えると無色の結晶が生成した。この結晶を沪取し、酢酸エチルで洗うと目的物2.2g (收率: 92%) を得た。この化合物の物性値は下記に示すようなものであつた。

融点: 243~246 °C (分解)

元素分析 C₂₅H₂₀ClN₅O_{1.2}

実測値: H₃.18%, C48.66%, N11.17%

理論値: H₃.26%, C48.60%, N11.33%

代理人弁理士 (8107) 佐々木清隆

(ほか2名)



-21-